



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 49/00, 49/04		A2	(11) Numéro de publication internationale: WO 97/01359
			(43) Date de publication internationale: 16 janvier 1997 (16.01.97)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR96/00992</p> <p>(22) Date de dépôt international: 25 juin 1996 (25.06.96)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 95/07860 29 juin 1995 (29.06.95) FR</p> <p>(71) Déposant (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): GUERBET S.A. [FR/FR]; 15, rue des Vanesses, F-93420 Villepinte (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et</p> <p>(75) Inventeurs/Déposants (<i>US seulement</i>): MEYER, Dominique [FR/FR]; 6, rue de Metz, F-94100 Saint-Maur (FR). ROUSSEAU, Olivier [FR/FR]; 13, avenue du Val-d'Aunette, F-60300 Senlis (FR). SCHAEFER, Michel [FR/FR]; 17, avenue Jean-Baptiste-Leprinse, F-77400 Lagny (FR). SIMONOT, Christian [FR/FR]; 43, rue Alphonse-Penaud, F-75020 Paris (FR).</p> <p>(74) Mandataire: LE GUEN, Gérard; Cabinet Lavoix, 2, place d'Estienne-d'Orves, F-75441 Paris Cédex 09 (FR).</p>			<p>(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, brevet ARIGO (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Publiée <i>Sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport.</i></p>
<p>(54) Title: METAL COMPLEXES OF POLYAMINOACIDS, AND THEIR UTILIZATION IN DIAGNOSTIC IMAGING</p> <p>(54) Titre: COMPLEXES METALLIQUES DE POLYAMINOXYDES ET LEUR UTILISATION EN IMAGERIE DIAGNOSTIQUE</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to complexes of gadolinium having the formula (I) wherein R is a group having formula (1). These complexes are usable in the field of diagnostic imaging.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>L'invention concerne des complexes du gadolinium de formule (I) dans laquelle R représente un groupe de formule (1). Ces complexes sont utilisables dans le domaine de l'imagerie diagnostique.</p>			
<div style="text-align: center;"> $\begin{array}{c} \text{R} \quad \quad \quad \text{R} \\ \quad \quad \quad \\ \text{OOC}-\text{CH}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}-\text{COO} \\ \quad \quad \quad \\ \text{CH}_2 \quad \quad \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \\ \text{CH}_2 \quad \quad \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \\ \text{OOC}-\text{CH}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}-\text{COOM} \\ \quad \quad \quad \\ \text{R} \quad \quad \quad \text{R} \end{array} \quad \text{Gd}^{3+} \quad (I)$ </div> <div style="text-align: center;"> $\begin{array}{c} \text{X} \quad \quad \quad \text{CO-NR}_1\text{R}_2 \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{C}_6\text{H}_3\text{X}_2 \\ \\ -(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_3\text{X}_2-\text{CO}-\text{NR}_1\text{R}_2 \\ \\ \text{X} \quad \quad \quad \text{X} \end{array} \quad (1)$ </div>			

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Arménie	GB	Royaume-Uni	MW	Malawi
AT	Autriche	GE	Géorgie	MX	Mexique
AU	Australie	GN	Guinée	NE	Niger
BB	Barbade	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BE	Belgique	HU	Hongrie	NO	Norvège
BF	Burkina Faso	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BG	Bulgarie	IT	Italie	PL	Pologne
BJ	Bénin	JP	Japon	PT	Portugal
BR	Brésil	KE	Kenya	RO	Roumanie
BY	Bélarus	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CA	Canada	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CF	République centrafricaine	KR	République de Corée	SE	Suède
CG	Congo	KZ	Kazakhstan	SG	Singapour
CH	Suisse	LI	Liechtenstein	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LR	Libéria	SN	Sénégal
CN	Chine	LT	Lithuanie	SZ	Swaziland
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CZ	République tchèque	LV	Lettonie	TG	Togo
DE	Allemagne	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DK	Danemark	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
EE	Estonie	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	UG	Ouganda
FI	Finlande	MN	Mongolie	US	Etats-Unis d'Amérique
FR	France	MR	Mauritanie	UZ	Ouzbékistan
GA	Gabon			VN	Viet Nam

COMPLEXES METALLIQUES DE POLYAMINOXYDES ET LEUR UTILISATION EN IMAGERIE DIAGNOSTIQUE

La présente invention concerne des complexes métalliques de polyaminoacides, leur procédé de préparation et leur utilisation en imagerie diagnostique.

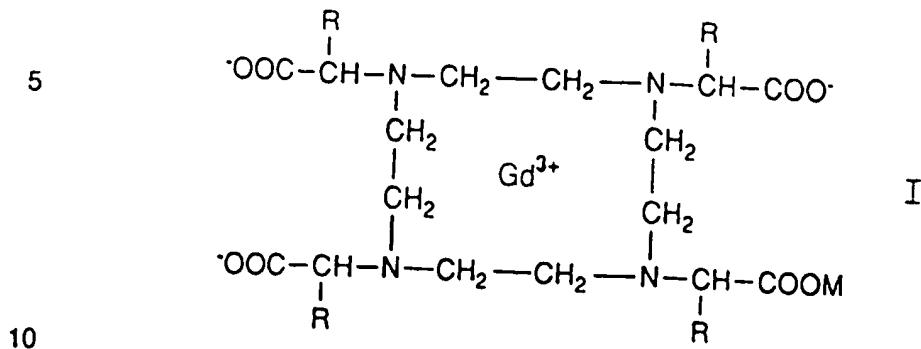
Ces composés sont des dérivés ramifiés de l'acide 5 gadotérique, commercialisé sous forme de sel de méglumine sous la marque Dotarem® comme agent de contraste pour l'imagerie par résonance magnétique. Le gadotérate de méglumine est un complexe stable dont la relaxivité spin-réseau à 37° C et 20 MHz est environ $3,5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, du même ordre de grandeur que celle des autres agents de contraste 10 commercialisés.

Les complexes de gadolinium selon l'invention ont des relaxivités R_1 supérieures à $20 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$; ceci permet d'administrer au sujet, pour obtenir une même intensité de signal, une composition de diagnostic 15 dont la concentration molaire en Gd^{3+} complexé, et donc en composé selon l'invention, est 6 fois et même 10 fois inférieure aux concentrations actuellement utilisées en clinique.

Comme l'osmolalité des solutions des complexes de l'invention, pour une même relaxivité, est nettement inférieure à celle du Dotarem® et même à celle de composés non ioniques comme le gadodiamide, on peut envisager d'utiliser des solutions dont la teneur pondérale en 20 principe actif est supérieure à celles que l'on connaît pour obtenir des images de meilleure qualité, sans atteindre un niveau d'effets secondaires inacceptable.

Outre l'ion métallique lourd Gd^{3+} , ces complexes comportent 25 des atomes de brome ou d'iode et sont opaques aux rayons X et ils sont suffisamment solubles, notamment par la présence de groupes hydrophiles autour des noyaux aromatiques, pour être utilisés en radiologie conventionnelle ou en dichromographie.

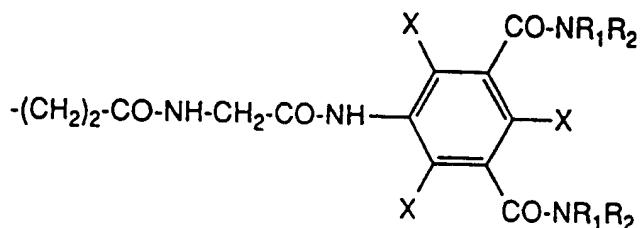
Les composés de l'invention ont pour formule :



dans laquelle

R représente un groupe

15



20

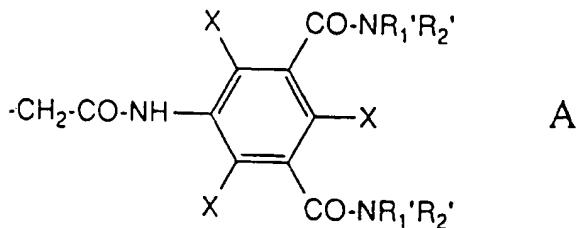
dans lequel X est Br ou I,

R₁ est H, (C₁-C₃)alkyle ou (C₂-C₆)mono- ou polyhydroxyalkyle et

R₂ est (C₂-C₆)mono- ou polyhydroxyalkyle, ou bien

R₁ est H et R₂ est un groupe

25



30

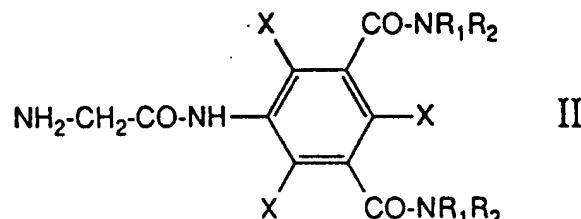
X étant tel que défini ci-dessus et R', et R'₂ prenant indépendamment l'un de l'autre l'une quelconque des significations données pour R₁ et R₂, à l'exclusion de A, étant entendu que -CO-NR₁R₂ ou -CO-NR'R₂ comportent au moins 2 groupes hydroxyle, et M représente H ou un cation organique ou minéral. Parmi ceux pharmaceutiquement acceptables, on peut citer Na⁺ ou ceux dérivés de la lysine, l'arginine, la N-méthylglucamine ou la diéthanolamine.

Les groupes alkyles peuvent être linéaires ou ramifiés.

On préfère les composés dans lesquels -CONR₁R₂, ou -CONR'R₂ portent au moins 6 groupes hydroxyle et particulièrement représentent -CON(CH₂(CHOH)₄CH₂OH)₂.

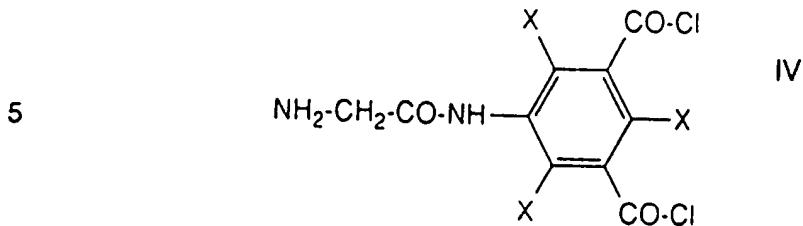
Les composés de formule I peuvent être préparés par action de l'amine de formule II

15



20 dans laquelle X, R₁, R₂ sont tels que définis ci-dessus, sur le complexe du gadolinium de formule III répondant à la formule développée I dans laquelle R = -(CH₂)₂COOH, en présence d'un agent de couplage, notamment de l'un de ceux utilisés en synthèse peptidique, tel qu'un carbodiimide, par exemple en solution aqueuse.

25 Les amines de formule II, pour lesquelles R₂ est distinct de A, peuvent être obtenues par réaction de HNR₁R₂ avec le dichlorure de diacide de formule IV :



10 dans lequel la fonction NH_2 est protégée sous forme de phtalimide, suivie d'une hydrazynolyse.

Les aminoalcools HNR_1R_2 sont connus ou peuvent être préparés par des méthodes analogues à celles décrites dans la littérature. On peut citer, en particulier, les aminoalcools commercialisés, définis par:

15 i) $\text{R}_1 = \text{H}$ et $\text{R}_2 = \text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$;
 ii) $\text{R}_1 = \text{H}$ et $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$
 ou $\text{CH}_2\text{-(CHOH)}_2\text{CH}_2\text{OH}$;
 iii) $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{-(CHOH)}_4\text{CH}_2\text{OH}$ et $\text{R}_2 = \text{CH}_3$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ou R_1 ;
 iv) la glucosamine,
 20 et plus généralement ceux décrits dans EP-A-558 395, EP
 EP-A-25083 et EP-A-33 426.

Les amines de formule II pour lesquelles R_2 représente A et R, représente H sont simplement obtenues en faisant réagir une amine de formule H_2NA sur le dichlorure de diacide de formule IV préalablement 25 N-protégé. On notera que l'amine H_2NA , laquelle correspond à une amine de formule II dans laquelle R_2 est distinct de A, peut être préparée conformément au procédé proposé ci-dessus.

30 Les compositions d'agent de contraste pour l'imagerie par résonance magnétique qui contiennent un composé de formule I dans un véhicule pharmaceutiquement acceptable sont un autre objet de l'invention.

Leur forme pharmaceutique sera adaptée à la voie d'administration.

De préférence, ces compositions d'agents de contraste seront des solutions aqueuses de sels physiologiquement acceptables du complexe de formule I. Les compositions de l'invention peuvent contenir en 5 outre des stabilisants, divers additifs destinés à rendre la solution isotonique ou permettent de fixer son pH, ainsi que tout autre type d'additif couramment utilisé dans la technique.

La concentration de la composition sera adaptée à la voie et à la zone d'administration; elle sera en général comprise entre 0,01 M 10 et 0,5 M et, de préférence, entre 0,05 M et 0,1 M.

La dose unitaire sera évidemment fonction de la structure du complexe et de la nature de l'examen; en général, on administrera de 0,005 mmole/kg à 0,1 mmole/kg.

Dans ce qui suit, on décrit les procédés de préparation du 15 complexe de formule III, en solution aqueuse, de l'amine de formule II dans laquelle $R_1 = R_2 = \text{CH}_2(\text{CHOH})_4\text{CH}_2\text{OH}$ et de celle dans laquelle $R_1 = \text{H}$ et $R_2 = \text{A}$ avec $R'_1 = R'_2 = \text{CH}_2(\text{CHOH})_4\text{CH}_2\text{OH}$.

Préparation du complexe de formule III

20

Etape a)

On verse lentement 167 g de 2-bromoglutarate de diméthyle dans une suspension de 30 g de 1,4,7,10-tétraazacyclododécane et 97 g de carbonate de potassium dans 875 ml d'acétonitrile; le mélange 25 est agité, sous atmosphère inerte à 60° C pendant 48 heures au cours desquelles on ajoute 83 g de 2-bromoglutarate de diméthyle. Puis, à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré et la solution concentrée à sec. L'huile résiduelle est purifiée par chromatographie sur silice, en éluant avec un gradient de dichlorométhane-méthanol (100/0 à 80/20) pour 30 donner 43 g d'octaester sous forme d'huile.

Etape b)

L'huile précédente en solution dans 72 ml de méthanol est introduite dans une solution aqueuse de NaOH (68 g NaOH; 340 ml d'eau), 5 et le mélange est maintenu sous agitation à 70° C pendant 48 heures.

Le méthanol est éliminé sous pression réduite et la phase aqueuse extraite avec du chlorure de méthylène, avant d'y introduire environ 800 ml de résine cationique échangeuse d'ions Amberlite®, commercialisée par Rohm et Haas, sous la désignation IRC 50 (acide 10 faible).

Après 1 heure de contact, la résine est éliminée et on introduit dans la solution 680 ml de résine Amberlite® anionique échangeuse d'ions, désignée par IRA 458 (base forte).

15 Après 12 heures, la résine est séparée et introduite dans une colonne; le produit cherché est isolé par élution à l'aide de 4 l d'une solution aqueuse d'acide acétique 3N puis 4 l de solution 6N.

On obtient, après élimination du solvant sous pression réduite, 31 g de cristaux blancs.

20 RMN¹³C (200 MHz; DMSO-d6; T = 30° C): 24; 31; 48; 62; 172; 174.

Etape c)

25 29,4 g de l'octaacide précédemment obtenu sont mis en suspension dans 530 ml d'eau, avec 15,8 g de GdCl₃·6 H₂O; sous agitation, une solution aqueuse de NaOH 1N est introduite lentement jusqu'à ce que le pH du milieu soit stabilisé à 6,5. Le milieu est alors filtré sur un filtre Millipore® de maille 0,45 µm et le filtrat concentré à sec. On obtient, après dessication 49,3 g de sel de sodium du complexe de 30 gadolinium de formule III, sous forme d'un solide beige contenant le NaCl formé au cours de la complexation.

Ce produit peut être purifié par précipitation dans l'éthanol aqueux et traitement, pour éliminer un excès de Gd^{3+} non complexé, par une résine chélatante telle que celle commercialisée par Biorad Laboratoires sous la marque CHELEX.

5 Relaxivité R_1 (37° C; 20 MHz) = 5,9 mM $^{-1}$ s $^{-1}$;
Chromatographie : HPLC sur colonne Hibar Licrosorb® Diol
5 µm, l = 25 cm, d = 4 mm; (Merck), éluant CH₃CN/KH₂PO₄
0,01 M (50/50 - v/v)
Temps de rétention : 2 minutes.

Préparation de l'amine de formule II dans laquelle $R_1 = R_2 = \text{CH}_2\text{-(CHOH)}_{12}\text{CH}_2\text{OH}$ et $X = \text{I}$ (Composé IIa)

Etape a)

25 Etape b)

On maintient 5 heures à 80° C une solution, dans 1000 ml de diméthylacétamide, de 104 g du dichlorure d'acide précédent, 208 g de disorbitylamine et 50 ml de triéthylamine. Le précipité formé est séparé et le solvant est éliminé par distillation sous pression réduite; le résidu est dissous dans l'eau à pH 3 et mis en contact avec 750 ml de résine

cationique échangeuse d'ions Amberlite® commercialisée par Rohm et Haas sous la dénomination IRN 77 (acide fort). Après 2 heures d'agitation, on sépare la résine et on introduit dans la solution aqueuse (700 ml) du diamide purifié, 17 ml d'hydrate d'hydrazine. Après 5 heures d'agitation à 5 80° C, le milieu est acidifié à température ambiante par addition de 26 ml d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 10 N. Le précipité formé est isolé et la solution est passée sur une colonne de 500 ml d'une résine anionique faible échangeuse d'ions (Amberlite® IRA 67) puis 80 ml d'une résine cationique faible (Amberlite® IRC 50); on traite la solution obtenue 10 par 4 l de résine Amberlite® acide fort, sur laquelle se fixe le produit final; il est élué par une solution aqueuse de NH₄OH. L'amine II est obtenue avec 70 % de rendement sous forme d'un solide beige.

Chromatographie HPLC : colonne LiChrospher® 100 RP
18, 5 µm (Merck) - h = 25 cm; d = 4 mm.

15 Eluant : CH₃CN/PIC® B8 0,05 M (Waters) 5/95; débit : 1 ml/mn

Temps de rétention des isomères : 8 minutes environ

* : PIC B8 : mélange acide octane sulfonique/méthanol/
acétate de calcium/eau.

20

Préparation de l'amine de formule II dans laquelle R₁ = R₂ =
CH₂(CHOH)₄CH₂OH et X = Br (Composé IIb)

On applique le même mode opératoire que précédemment pour obtenir le produit souhaité. Le pic moléculaire de son spectre de 25 masse par électrospray est correct. En chromatographie liquide haute performance, les temps de rétention des isomères sont d'environ 8 minutes dans les mêmes conditions que précédemment.

L'acide 5-amino-2,4,6-tribromoisophthalique de départ est préparé avec 85 % de rendement par action de 100 ml de brome sur une 30 solution dans 1300 ml d'eau et 380 ml d'acide chlorhydrique concentré, de

87 g d'acide 5-aminoisophtalique.

CCM : SiO₂ Merck :

C₆H₆/CH₃COC₂H₅/HCO₂H (60/25/11) R_f = 0,8;

(CH₃)₂CHOH/CH₃COOC₂H₅/NH₄OH (35/35/40) R_f = 0,4.

5

Le dichlorure d'acide correspondant est préparé de façon classique par action de SOCl₂ sur le diacide correspondant avec 88 % de rendement.

CCM : SiO₂ Merck :

10 CH₂Cl₂ R_f = 0,9.

Les phtalimides (dichlorure d'acide et diamide) ont respectivement des temps de rétention de 11 minutes et de 15 à 30 minutes en chromatographie liquide haute performance, sur colonne 15 LiChrospher® 100 RP18, 5 µm (Merck) l = 250 mm; d = 4 mm, avec un débit de 1 ml/minute en éluant dans le premier cas avec un mélange 60/40 d'acetonitrile et de solution aqueuse 0,01 M de KH₂PO₄ et, dans le second cas, avec le même mélange dans les proportions 7/97 (v/v).

20 Préparation de l'amine de formule II avec R₁ = H, R₂ = A, R'₁ = R'₂ = CH₂(CHOH)₂CH₂OH, X = I (Composé IIc)

On agite 24 heures à 70° C une solution, dans 400 ml de diméthylacétamide, 59 g du dichlorure de l'acide 2,4,6-triiodo-5-phtalimidoacétamidoisophtalique, 200 g de l'amine IIa obtenue, par mise en œuvre 25 du mode opératoire précédent et 29,5 ml de tributylamine.

Le solvant est alors éliminé sous pression réduite et le résidu est purifié par chromatographie sur 4 kg d'adsorbant XAD1600 (Rohm et Haas) en éluant avec un mélange CH₃OH/H₂O.

La solution aqueuse, qui contient le phtalimide attendu (80 30 % de la théorie), est traitée comme dans la préparation précédente par

l'hydrate d'hydrazine pour donner l'amine II attendue avec un rendement de 85 %.

Chromatographie : gel Superdex® 30 en colonne 16 mm/60 cm (Pharmacia).

5 Eluant : tampon NaCl 0,1 M/NaH₂PO₄ 0,05 M/NaN₃ 0,01 M pH = 7,2;

Débit 1 ml/minute;

Volume d'élution : 102 ml pour 1 mg dans 250 µl.

10 HPLC colonne Symmetry® C 18,5 µm (Waters) l = 25 cm d = 4,6 mm;

Eluant : CH₃CN/KH₂PO₄ 0,01 M (15/85) (sans CH₃CN pendant 5 minutes);

débit 1 ml/mn;

Temps de rétention des isomères : 18 mn environ.

15

Préparation de l'amine de formule II avec R₁ = H, R₂ = A, R'₁ = R'₂ = CH₂(CHOH)CH₂OH et X = Br (Composé IIId)

Etape (a) :

20 A 70° C, on introduit 17,3 g de dichlorure de l'acide 5-phtalimidoacétamido-2,4,6-tribromoisophthalique dans 185 ml de diméthylacétamide, 11,3 ml de triéthylamine et 66,6 g du composé IIb. Après 24 heures d'agitation, le milieu à température ambiante est versé dans 2 litres de chlorure de méthylène et le précipité formé séparé. Il est purifié par chromatographie de sa solution aqueuse sur 3 l de résine polystyrénique, 25 de type XAD 1600, commercialisée par Rohm et Haas. Rendement 90 %.

Etape (b) :

On maintient à 80° C pendant 5 heures une solution de 37,5 g du composé précédemment isolé dans 130 ml d'eau et 2 ml de solution aqueuse à 35 % d'hydrazine. Après refroidissement, le milieu est amené à 30 pH 1 par addition d'HCl aqueux 10N puis chromatographié successivement

sur 100 ml de résines Amberlite® cationique (IRN77) et anionique (IRA67) et sur 500 ml d'une résine acide polystyrénique, échangeuse de cations de type IMAC HP222 commercialisée par Rohm et Haas, d'où le produit cherché est élué par une solution aqueuse de NH₄OH 3M puis isolé par 5 précipitation dans l'éthanol après concentration.

- Chromatographie HPLC : colonne LiChrospher® 100 RP18, 5,25 µm, l = 25 cm, d = 4 mm; (Merck), éluant : HCl aqueux (pH 3,4)/CH₃CN 97/3; débit = 1 ml/mm; temps de rétention : 4,5 à 8 mn.
- Spectre de masse (électrospray) : conforme.

10

Préparation de l'amine de formule II dans laquelle R₁ = CH₃, R₂ = CH₂(CHOH)₂CH₂OH et X = I (Composé IIe)

Etape (a) :

25 g de dichlorure de l'acide 5-phtalimidoacétamido-2,4,6-triiodoisophthalique sont dissous dans 170 ml de diméthylacétamide à température ambiante avec 13 g de 4-(N-méthyl)aminobutane-1,2,3-triol et 22,8 ml de tributylamine; le milieu est conservé 8 heures sous agitation à température ambiante puis concentré sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie de sa solution aqueuse sur résine cationique 15 H⁺ Amberlite® IRN77. Rendement > 95 %.

20 Etape (b) :

25 75 g du produit précédemment obtenu sont introduits à 80° C dans 50 ml d'eau contenant 1,43 ml de solution aqueuse à 35 % d'hydrazine et le mélange est maintenu à cette température pendant 5 heures avant d'être amené à pH 1 par addition d'HCl aqueux 10N. Le précipité est séparé et la phase aqueuse est chromatographiée sur 100 ml de résine cationique H⁺ Amberlite® IRC50 puis sur 200 ml de résine anionique OH⁻ Amberlite® IRA67.

30 Par concentration on obtient le produit final avec 80 % de rendement.

12

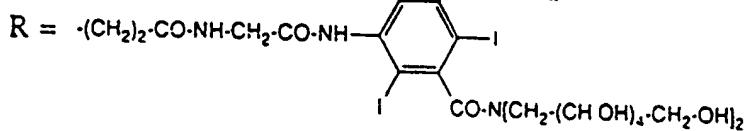
CCM : sur plaque silice Merck 60 F; éluant acétate d'éthyle/isopropanol/solution aqueuse d'ammoniaque 15N (35/35/40). $R_f = 0,7$.

5

Exemple 1

Composé de formule I dans laquelle $M = Na$ et

10



15

On maintient 48 heures à température ambiante, sous agitation, 1 g du complexe de gadolinium de formule III, 5g du composé IIa et 6,8 g de chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthyl-carbodiimide dans 13 ml d'eau; le pH du milieu réactionnel est maintenu à 7, par addition à plusieurs reprises d'une solution aqueuse de HCl 1N.

20

Le milieu réactionnel auquel on a ajouté 50 ml d'eau est soumis à une ultrafiltration avec une cassette minisette de type nova commercialisée par la Société Filtron (U.S.A.) comportant une membrane de polyéthersulfone de 5 KDa de seuil de coupure.

On obtient 2 g de produit brut sous forme de sel de sodium qui peut être purifié par chromatographie d'exclusion stérique sur une colonne de gel Superdex®, commercialisé par Pharmacia, en éluant à l'eau.

25

Chromatographie HPLC : colonne Hibar Licsosorb® Diol

5 μ m, l = 25 cm, d = 4 mm (Merck)

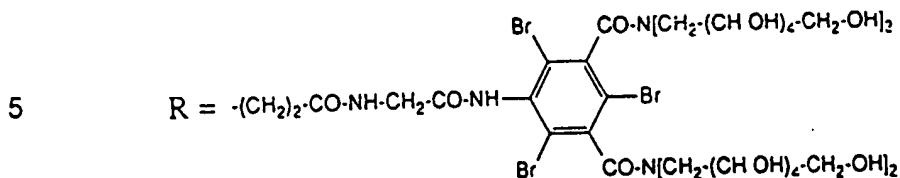
Éluant : KH_2PO_4 0,01 M/CH₃CN (45/55)

Débit 1 ml/mn

Temps de rétention : 6 minutes

Exemple 2

Composé de formule I dans laquelle $M = Na$ et



On introduit peu à peu 50 g de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide dans une solution, dans 100 ml d'eau, de 7,4 g du complexe de gadolinium de formule III et 37 g de l'amine IIb, en maintenant le milieu à pH 7 par addition de HCl 1N. Après 48 heures d'agitation à température ambiante, le milieu est soumis à une ultrafiltration, comme à l'exemple 1, mais avec une membrane de 3 KDa de seuil de coupure, puis il est mis en contact avec 500 ml de résine anionique échangeuse d'ions Amberlite® IRA 458 (base forte).

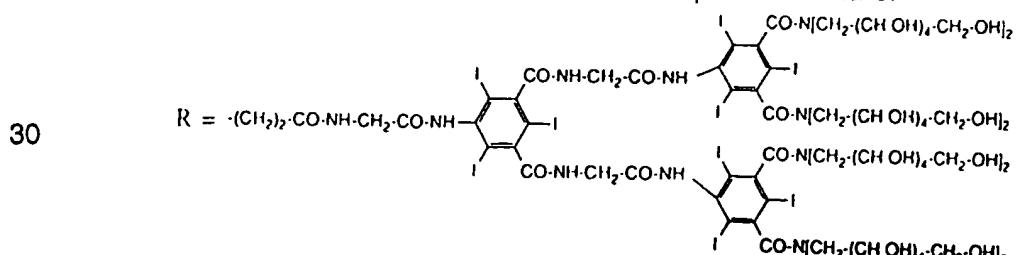
Après élimination de la résine et évaporation de l'eau, on obtient 14 g du produit attendu sous forme d'un solide beige.

Le produit brut peut aussi être isolé du milieu réactionnel par précipitation dans l'alcool éthylique.

20 Chromatographie : HPLC colonne Hibar Licosorb® Diol 5
μm, l = 25 cm, d = 4 mm;
Eluant KH_2PO_4 0,01 M / CH_3CN (45/55 - v/v);
Debit 1ml/mn;
Temps de rétention : 5 minutes;

Exemple 3

Composé de formule I dans laquelle $M = Na$ et



On dissout 0,3 g du complexe du gadolinium de formule III et 3,5 g du composé IIc dans 10 ml d'eau et on introduit goutte à goutte une solution d'HCl 1N jusqu'à pH 6,5, puis on ajoute 1,1 g du chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3 éthylcarbodiimide.

Après 24 heures d'agitation à température ambiante, on ajoute 80 ml d'eau et on purifie comme précédemment, le milieu par ultrafiltration avec une membrane de 8 KDa de seuil de coupure, pour isoler 1,5 g du sel de sodium du complexe attendu sous forme d'une poudre blanche.

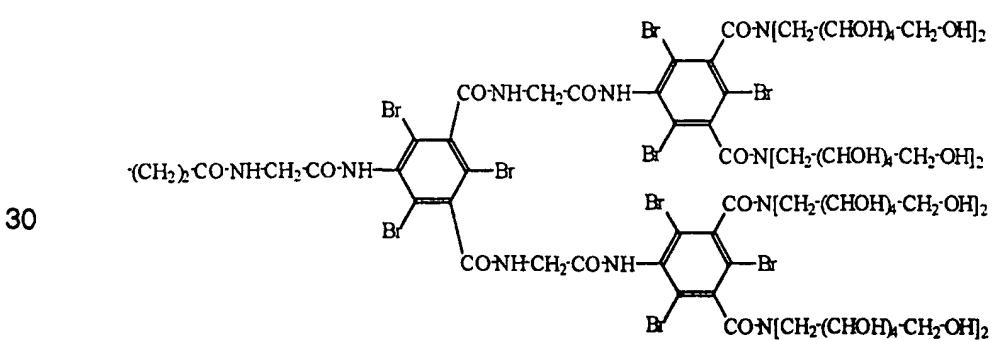
On peut aussi effectuer la réaction vers 40° C, éventuellement en présence d'une quantité catalytique de sel de sodium de l'acide (N-hydroxysuccinimidyl)-3-sulfonique.

15 Le produit peut être purifié par précipitation dans l'isopropanol.

Chromatographie d'exclusion stérique : 4 colonnes, commercialisées par Shodex (JP) sous les références OH Pak SB-()HQ de diamètre 8 mm et longueur 30 cm, montées en série, remplies de gel de polyhydroxyméthacrylate; limites d'exclusion par rapport à du pullulan : 10^6 kdaltons (SB-804); 10^5 kdaltons (SB-803); 10^4 kdaltons (SB-802-5); 10^4 kdaltons (SB-802-5). Eluant NaCl aqueux 0,16 M/CH₃CN (70/30 V/V); débit 0,8 ml/mn; T = 30° C. Temps de rétention : 34,4 minutes.

Exemple 4

25 Composé de formule I dans laquelle M = Na et



On dissout 1,8 g de sel de sodium du complexe de formule III et 21,8 g de l'amine (composé II^d) dans 45 ml d'eau; après acidification par HCl aqueux 1N jusqu'à pH 6, on porte le milieu à 40° C avant 5 d'introduire 2,2 g de chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthyl-carbodiimide et 0,165 g de sel de sodium de l'acide (N-hydroxysuccinimidyl) 3-sulfonique. Après 2 heures d'agitation, le mélange est versé dans 600 ml d'éthanol et le précipité formé est dissous dans 270 ml d'eau.

La solution est ultrafiltrée comme précédemment sur une 10 membrane de 1 kdalton de seuil de coupure. Après évaporation de l'eau, on obtient 15 g du produit cherché sous forme de poudre blanche.

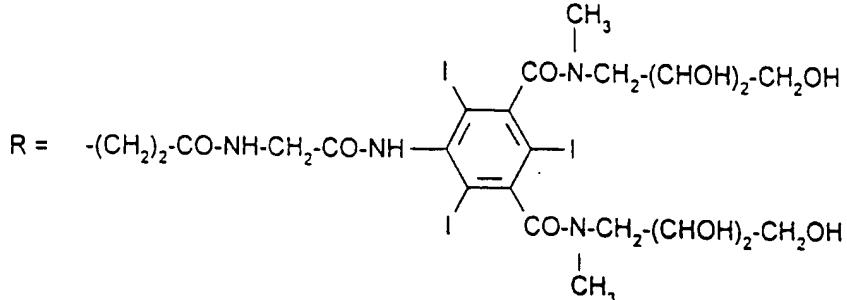
Chromatographie d'exclusion stérique : même conditions qu'à l'exemple 3. Temps de rétention : 33,7 minutes.

15

Exemple 5 :

Composé de formule I dans laquelle M = Na

20



25

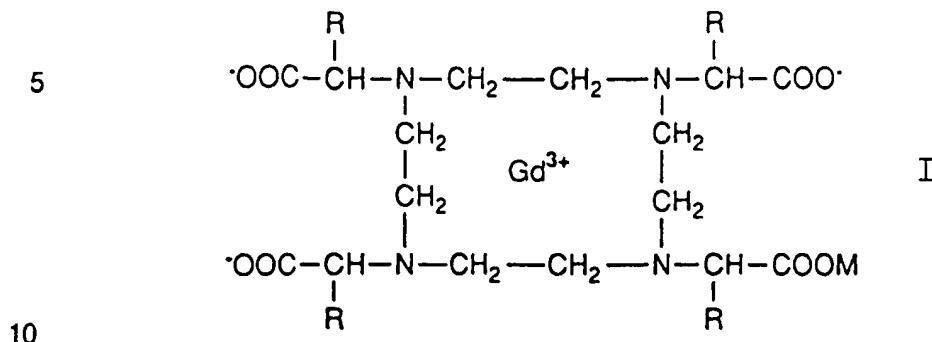
En appliquant le mode opératoire de l'exemple 1, on obtient à partir de l'amine II^e et du complexe de formule III (sel de sodium) le produit cherché.

30

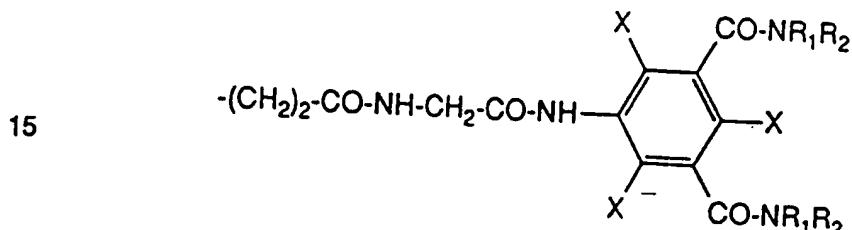
HPLC : conditions opératoires de l'exemple 2. Temps de rétention : 3 minutes.

REVENDICATIONS

1. Complexe de gadolinium de formule :



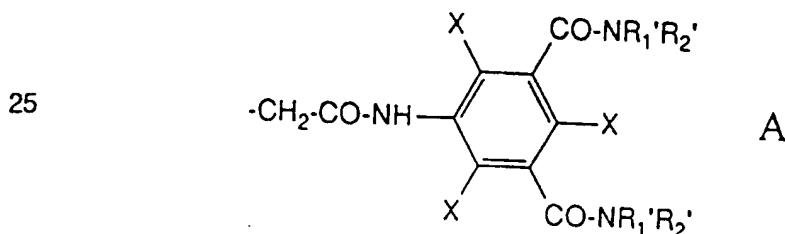
dans laquelle R est un groupe de formule :



dans lequel

X est Br ou I

20 R₁ est H, (C₁-C₃)alkyle ou (C₂-C₈)mono- ou polyhydroxyalkyle et
 R₂ est (C₂-C₈)mono- ou polyhydroxyalkyle, ou bien
 R₁ est H et R₂ est un groupe de formule :



30 X étant tel que défini ci-dessus et R'₁, R'₂ prenant l'une quelconque des significations données pour R₁, R₂, à l'exclusion de A, étant entendu que

-CO-NR₁R₂ ou -CO-NR'₁R'₂ comportent au moins 2 groupes hydroxyles, et M représente H ou le cation d'une base minérale ou organique.

2. Complexe selon la revendication 1 de formule I, dans laquelle -CONR₁R₂ ou -CONR'₁R'₂ porte au moins 6 groupes hydroxyle.
- 5 3. Complexe selon l'une quelconque des revendications précédentes de formule I, dans laquelle M est un cation organique ou minéral choisi parmi Na⁺ et les cations dérivés de la lysine, l'arginine, la N-méthylglucamine ou la diéthanolamine.
- 10 4. Complexe selon l'une quelconque des revendications précédentes de formule I, dans laquelle R₁ et R₂ représentent CH₂-(CHOH)₄-CH₂OH et X représente Br.
- 15 5. Complexe selon l'une quelconque des revendications précédentes de formule I, dans laquelle R₁ est H, R₂ est A et R'₁ et R'₂ représentent CH₂-(CHOH)₄-CH₂OH et X représente Br.
- 20 6. Composition d'agent de contraste pour imagerie par résonance magnétique, caractérisée en ce qu'elle comprend un complexe selon l'une des revendications 1 à 5 sous forme de sel avec une base pharmaceutiquement acceptable, en association avec un véhicule pharmaceutique.
7. Composition d'agent de contraste pour imagerie par rayons X, caractérisée en ce qu'elle comprend un complexe selon l'une des revendications 1 à 3, dans lequel X représente I, sous forme de sel avec une base pharmaceutiquement acceptable, en association avec un véhicule pharmaceutique.